

Aus dem Pharmakologischen Institut der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

EINE APPARATUR ZUR PERFUSION DES
ISOLIERTEN RATTENHIRNS MIT ZWEI
PARALLELKREISLÄUFEN

INAUGURALDISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg - Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen
vorgelegt von

ERNST-MICHAEL REICHMANN
aus Wiesbaden

Mainz 1973

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)

Aus dem Pharmakologischen Institut der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

EINE APPARATUR ZUR PERFUSION DES
ISOLIERTEN RATTENHIRNS MIT ZWEI
PARALLELKREISLÄUFEN

INAUGURALDISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg - Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen
vorgelegt von

ERNST-MICHAEL REICHMANN
aus Wiesbaden

Mainz 1973

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)



Fachbereichsdekan: Professor Dr. P. Klein

Referent: Professor Dr. Dr. J. Krieglstein

Korreferent: Professor Dr. H. Scholz

	Seite
EINLEITUNG	1
METHODIK	
A Apparatur zur Perfusion des isolierten Rattenhirns	
1. Beschreibung der Apparatur	2
2. Handhabung der Apparatur	6
3. Messungen an der Apparatur	7
a. Messung der Oxygenierungsleistung	7
b. Messung der apparaturbedingten Hämolyse	8
c. Messung der Adsorption von Chlorpromazin an Teile der Apparatur	8
B Perfusion des isolierten Rattenhirns	
1. Zubereitung des Perfusionsmediums	9
2. Präparation des isolierten Rattenhirns und Anlegen der Elektroden	9
3. Anschließen an die Apparatur	10
4. Ableitung des EEG	10
C Anwendung der Apparatur	
1. Perfusion mit einem System der Apparatur	11
2. Perfusion mit beiden Systemen der Apparatur	11
3. Messung der Glukose während der Perfusion	12
a. mit einem System	12
b. mit beiden Systemen	12
4. Perfusion mit einem trichloräthanolhaltigen Medium	12
ERGEBNISSE	
1. Oxygenierungsleistung der Apparatur	13
2. Apparaturbedingte Hämolyse	13
3. Adsorption von Chlorpromazin an Kunststoffteile der Apparatur	13
4. Glukosekonzentration während der Perfusion	14
a. mit einem System	14
b. mit beiden Systemen	14
5. Perfusion mit einem trichloräthanolhaltigen Medium	14
DISKUSSION	24
ZUSAMMENFASSUNG	27
LITERATURVERZEICHNIS	28



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554427_0042

E I N L E I T U N G

Die Methodik des isoliert perfundierten Gehirns ist bereits für verschiedene Laboratoriumstiere z.B. für die Katze (CHUTE u. SMYTH, 1939; GEIGER u. MAGNES, 1947; GEIGER 1961), den Hund (GILBOE et al., 1965), den Affen (WHITE et al., 1964) sowie die Ratte (ANDJUS et al., 1967; THOMPSON et al., 1968; URBAN et al., 1971) in mehreren Arbeiten beschrieben worden, die auch ihre Vorteile gegenüber Untersuchungen am Ganztier deutlich machen.

Dem Experimentator bietet diese Methodik die Möglichkeit, die Zusammensetzung des Perfusionsmediums selbst bestimmen und exakt standardisieren zu können. Das isolierte Gehirn kann mit zentral wirksamen Substanzen perfundiert werden, ohne daß Abbauvorgänge in Stoffwechselorganen, z.B. der Leber, die Konzentration der zugeführten Substanzen verändern. Unkontrollierte Einflüsse von Stoffwechselprodukten dieser Substanzen sowie körpereigener Substanzen sind weitgehendst ausgeschlossen.

Das isoliert perfundierte Rattenhirn hat sich als wertvolle Methode für biochemische und pharmakologische Untersuchungen erwiesen (SLOVITER u. YAMADA, 1971; ZIVIN u. SNARR, 1972b; HORST u. JESTER, 1971; KRIEGLSTEIN et al., 1972a; KRIEGLSTEIN u. STOCK, 1973; GRÜNER et al., 1973), wobei die verschiedensten Perfusionssysteme verwandt wurden (ANDJUS et al., 1967; THOMPSON et al., 1968; FLECK et al., 1972; ZIVIN u. SNARR, 1972a).

Die Konzeption einer Perfusionsapparatur muß sich nach den an sie gestellten Anforderungen richten. Ihre Erfüllung bestimmt die Eignung der Apparatur. Die vorliegende Arbeit beschreibt ein Gerät, das auf Erfahrungen aufbaut, die mit einer früher entwickelten Perfusionsapparatur (W. FLECK et al., 1972) gesammelt wurden.

Die neu entwickelte Perfusionsapparatur soll folgenden Kriterien genügen:

Sie soll zwei Perfusionssysteme in sich vereinigen, wobei gewährleistet sein muß, daß im Laufe der Perfusion ohne Einfluß auf das Präparat von einem auf das andere System umgeschaltet werden kann. Sie soll mit einer kleinen Menge Medium bei kleinem Totraum zuverlässig arbeiten. Sie soll Überlebenszeiten der Präparate von mindestens einer Stunde garantieren.

M E T H O D I K

A Apparatur zur Perfusion des isolierten Rattenhirns

1. Beschreibung der Apparatur

Die Apparatur vereint in sich zwei parallel angeordnete Perfusionssysteme. Jedes setzt sich aus drei Hauptelementen zusammen (Abb. 1 + 2):

dem Oxygenator, dem Pumpelement und dem Starlingwiderstand.

Der Oxygenator besteht aus einem hohlen Glaszylinder, der an der einen Seite offen ist und an der anderen in einem Stiel endet. Während der Zylinder, von einem Motor angetrieben, um seine Längsachse rotiert, taucht er zur Hälfte in den Mediumbehälter ein. Der auf ihm verbleibende Blutfilm wird mit Carbogen (95% O₂ + 5% CO₂) begast, das durch den Stiel in den Zylinder gelangt, nachdem es in einer Waschflasche physiologische Kochsalzlösung durchperlt hat. Der Mediumbehälter ist in den Deckel eines Plexiglasgehäuses eingelassen, das mit 36°C warmen Wasser versorgt wird. So wird die Temperatur des Perfusionsmediums konstant gehalten. Um ein zu schnelles Abströmen des Carbogens zu verhindern, schließt ein doppelwandiger Plexiglasdeckel den Mediumbehälter nach oben hin ab. In diesem Deckel zirkuliert 40°C warmes Wasser.

Die Temperaturdifferenz zwischen Deckel und Medium reicht aus, um die Feuchtigkeit des Carbogens und des Perfusionsmediums nicht als Kondenswasser vom Deckel zurücktropfen zu lassen, was eine Hämolyse des Mediums zur Folge hätte. Vom tiefsten Punkt des Mediumbehälters wird das Blut über Glasröhrchen angesaugt und gelangt durch das Pumpelement zum Präparat und/oder über den Starlingwiderstand in den Mediumbehälter zurück.

Den Kern des Pumpelements bildet ein Metallröhrchen, durch das ein Gummischlauch gesteckt ist, der an beiden Enden nach außen umgeklappt wird. Der Raum um das Pumpelement, von der Außenfläche des Gummischlauchs durch Öffnungen in dem Metallröhrchens bis hin zur Vorderfläche der Membran einer Membranpumpe ist mit physiologischer NaCl-Lösung gefüllt. Die Pumpbewegung der Membranpumpe überträgt sich so auf den Gummischlauch

und das Blut. Die Richtung des Blutstroms wird durch stählerne Ventilkegel am unteren und oberen Ende des Kerns bestimmt.

Der Starlingwiderstand besitzt den gleichen Kern wie das Pumpenelement: Metallröhrchen mit Gummischlauch, auf dem der zur Perfusion vorgegebene und von einem Quecksilbermanometer angezeigte Druck lastet. Die Gummiflächen legen sich dabei an eine Plexiglaswalze an und geben den Weg für das Perfusionsmedium zurück in den Mediumbehälter frei, sobald der Blutdruck größer wird als der vorgegebene (und solange, bis dieser erreicht ist).

Die Pumpenelemente und Starlingwiderstände beider Perfusionsysteme sind in einem Plexiglasblock zusammengefaßt. Die mit Wasser gefüllten Räume der beiden Pumpenelemente stehen miteinander in Verbindung, ebenso wie die Druckräume der Starlingwiderstände. Da außerdem der pulsierende Mediumfluß in beiden Systemen von einer Membranpumpe erzeugt wird, ist bei gleichem Druck gleiche Umwälzung in beiden Systemen gewährleistet.

Ein Zweivegehahn aus Teflon in der Mitte des Plexiglasblockes lenkt den Blutstrom wahlweise aus dem einen oder dem anderen Perfusionssystem über PVC-Kathe er zum Präparat, nachdem das Blut ein Filter passiert hat. Dieses Filter, eine Glasfritte (Porosität G2, Porenweite 40 - 50 μ , Fa. Schott, Mainz), ist in ein Plexiglasgehäuse eingelassen. Der Temperaturverlust des Blutes vom Mediumbehälter zum Präparat beträgt 2°C. Das aus den Venen des Präparates abfließende Blut tropft über den jeweiligen Glastrichter zurück in den Mediumbehälter. Ein ca. 1 cm² großes Stück Azelangewebe in den Glastrichtern verhindert, daß das zurückfließende Blut Luft mitreißt. Dies würde zur Schaumbildung im Mediumbehälter führen und damit zum Abbruch der Perfusion zwingen. Gleichzeitig hält das Azelan Gewebeteile zurück, die möglicherweise vom darüber befindlichen Präparat in den Trichter fallen und dadurch den Blutstrom in seinem Weg behindern würden. Der Totraum eines Perfusionssystems beträgt ca. 5 ml.

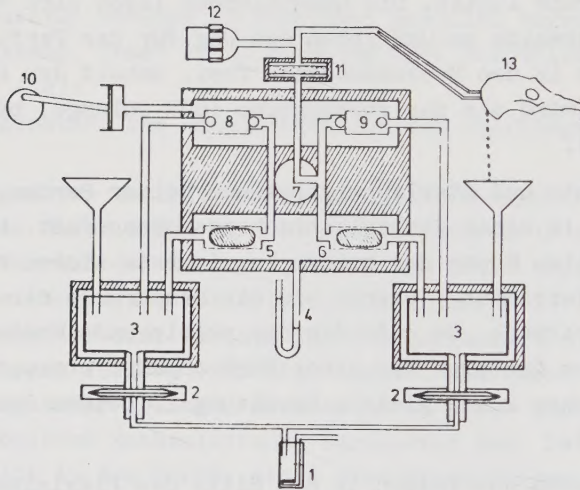


Abb. 1 Schematische Abbildung der Apparatur zur Perfusion
des isolierten Rattenhirns

- 1 Waschflasche für Carbogen mit physiologischer Kochsalzlösung
- 2 Antrieb der Glaszylinder
- 3 Oxygenator und Mediumbehälter
- 4 Quecksilbermanometer
- 5 u. 6 Starlingwiderstände
- 7 Zweiwegehahn
- 8 u. 9 Pumpelemente
- 10 Membranpumpe
- 11 Filter
- 12 Elektromanometer
- 13 Rattenschädel

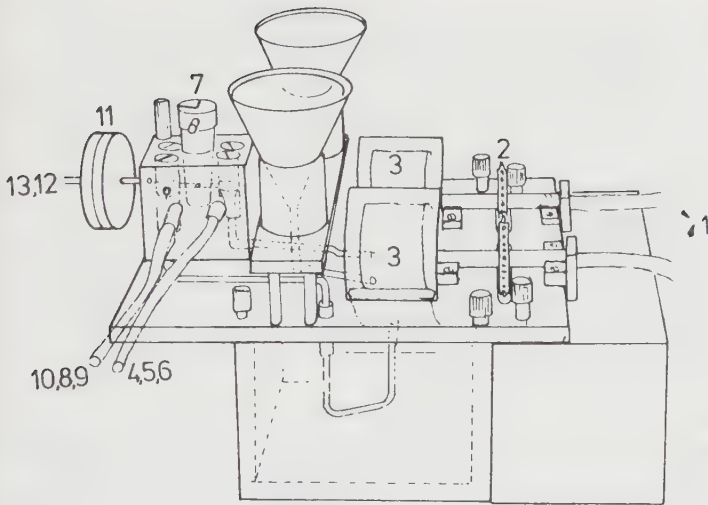


Abb. 2 Räumliche Abbildung der Perfusionsapparatur

Die Numerierung der Teile der Apparatur stimmt mit der von Abbildung 1 überein.

- 1 Waschflasche für Carbogen mit physiologischer Kochsalzlösung
- 2 Antrieb der Glaszylinder
- 3 Oxygenator und Mediumbehälter
- 4 Quecksilbermanometer
- 5 u. 6 Starlingwiderstände
- 7 Zweiwegehahn
- 8 u. 9 Pumpelemente
- 10 Membranpumpe
- 11 Filter
- 12 Elektromanometer
- 13 Rattenschädel

2. Handhabung der Apparatur

Das Aufbauen der Apparatur und die Vorbereitung zur Perfusion nehmen ca. 1 1/2 Stunden in Anspruch. Das Zusammensetzen des Plexiglasblockes mit den Pumpelementen und Starlingwiderständen erfolgt unter physiologischer Kochsalzlösung. Dann wird die mit aqua dest. gefüllte Pumpe luftblasenfrei angeschlossen. Die restliche, in den Blutwegen des Plexiglasblockes befindliche physiologische Kochsalzlösung wird mit der Wasserstrahlpumpe abgesaugt, um einen zu großen Verdünnungseffekt zu vermeiden. Ein Elektromanometer, zwischen dem Filter und dem Präparat an die PVC-Katheter angeschlossen, mißt den aktuellen Perfusionsdruck.

Über eine Stellschraube an der Pumpstange kann die Mittelstellung der Gummimembran im Pumpelement für die Druck- und Saugwirkung der Pumpe verändert werden. Die Regulierung erfolgt nach dem Füllen der Mediumbehälter bei laufender Apparatur, da die Flüssigkeitsstrahlen aus den Perfusionskathetern sowie die Bewegung des Gummischlauchs im Pumpelement und die Druckkurve auf dem Oscillographen die Kriterien für die günstigste Einstellung sind. Um ein zu starkes Durchbiegen der Membran während ihrer Pumpbewegung zu verhindern, wird auf ihre Rückfläche ein Druck ausgeübt, der dem des Starlingwiderstandes in etwa entspricht. Diese Einstellungsmöglichkeiten sollen optimale Pumpleistung und, zusammen mit einem luftblasenfreien Pumpsystem, eine sinusförmige Druckamplitude garantieren. Bei einem Starlingdruck von 140 mm Hg beträgt der Perfusionsdruck ca. 150 mm Hg. Der Carbogenstrom sollte möglichst nur so stark sein, daß die Gasperlen in der mit NaCl-Lösung gefüllten Waschflasche noch zählbar sind. So wird das Blut ausreichend äquilibriert, zugleich schließt dies aus, daß zuviel Kondenswasser in der Zuleitung ausfällt und mit dem Gasstrom in den Oxygenator getrieben wird.

Zum Abbau der Apparatur werden ca. 20 Minuten benötigt. Die Glasteile können in Chromschwefelsäure, die Plexiglasteile in Seifenlauge und mit Alkohol gereinigt werden. Die wenigen Silikonschläuche, die die Glasröhrchen verbinden, die Gummischläuche in den Pumpelementen sowie die PVC-Katheter werden bei jedem Aufbau der Apparatur erneuert.

3. Messungen an der Apparatur

Im Perfusionsmedium wurden verschiedene Messungen vorgenommen, die geeignet waren, Parameter der Perfusionsapparatur zu ermitteln, die ihre Verwendbarkeit zur Rattenhirnperfusion charakterisieren sollten. Dazu wurden Versuchsbedingungen gewählt, die denen bei der Rattenhirnperfusion weitgehendst gleichen. Aufbau und Einstellung der Apparatur erfolgten wie zur Perfusion des Rattenhirns. Der Druck im Starlingwiderstand betrug 140 mm Hg, die Pumpfrequenz 176 Stöße pro Minute. Das auf einer Temperatur von 36 °C gehaltene Perfusionsmedium rezirkulierte unter Carbogenbegasung. Um den Durchfluß dem bei der Perfusion anzugleichen, wurden die Katheter soweit abgeklemmt, bis nur noch 4 - 5 ml Medium pro Minute über den Rücklauftrichter in den Mediumbehälter gelangen konnten.

a. Messung der Oxygenierungsleistung

Der Sauerstoffpartialdruck des Perfusionsmediums wurde polarografisch mit einem Beckmann-Physiological Gas Analyzer, Modell 160, in mm Hg gemessen. Zur Festlegung zweier Eichpunkte wurde die PO_2 -Elektrode in zwei auf 37°C erwärmte physiologische Kochsalzlösungen mit verschiedenen Sauerstoffpartialdrücken getaucht. Zur Eichung des Nullpunktes wurde die eine Lösung mit nachgereinigtem Stickstoff äquilibriert, wobei dessen restlicher Sauerstoffgehalt vernachlässigt wurde. Die andere Lösung wurde mit Luft äquilibriert. Der in ihr vorhandene Sauerstoffpartialdruck konnte vor jeder Messung mit Hilfe des ausreichend konstanten Sauerstoffgehalts der Luft von 21 Vol%, der Wasserdampfspannung bei 37°C und dem aktuellen Luftdruck neu errechnet werden.

Zur Messung des Sauerstoffpartialdruckes im Medium wurde die geeichte PO_2 -Elektrode in eine dafür vorgesehene Glashalterung gesteckt. Diese war an die Katheter so angeschlossen, daß der Blutstrom ständig an der Elektrodenspitze vorbeifloß.

Die PO_2 -Elektrode mit der Glashalterung wurde in das auf 37°C erwärmte Wasserbecken getaucht, in dem die Eichung vorgenommen worden war. In sechs Versuchen über jeweils drei Stunden wurde der Anstieg der Sauerstoffspannung in Abhängigkeit von der Zeitdauer der Carbogenbegasung im Perfusionsmedium kontinuierlich gemessen und von einem Registriergerät aufgezeichnet.

b. Messung der apparaturbedingten Hämolyse

Das Hämoglobin wurde photometrisch als Hämiglobinzyanid (Zyanhämiglobin-Reagenz nach Drabkin der Fa. Asid, München) am Eppendorf-Photometer bei einer Wellenlänge von 546 nm gemessen. Um in einen günstigen Extinktionsbereich zu gelangen, wurden 0,1 ml der zu bestimmenden Fraktion zur Transformationslösung gegeben.

Die Eichkurve wurde mittels einer Verdünnungsreihe aus der Standardlösung (Zyanhämiglobin-Standardlösung der Fa. Asid, München) und der Transformationslösung (Zyanhämiglobin-Reagenz nach Drabkin der Fa. Asid, München) aufgestellt. Der Hämoglobingehalt wurde in mg% angegeben.

In sechs Versuchen wurde während einer Versuchsdauer von drei Stunden alle dreißig Minuten 1 ml Perfusionsmedium an den Kathetern abgenommen. Die Proben wurden bei Raumtemperatur in einer Tischzentrifuge (Jouan-Christ, Osterode) zehn Minuten bei 2000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipettiert und unter den gleichen Bedingungen nochmals zentrifugiert. In diesem erythrozytenfreien Überstand wurde die Hämoglobinkonzentration bestimmt.

c. Messung der Adsorption von Chlorpromazin an Kunststoffteile der Apparatur

Um den Chlorpromazingehalt zu bestimmen, wurde das Perfusionsmedium mit Natronlauge alkalisiert und mit isopentanolhaltigem (1,5 V%) n-Heptan geschüttelt und zentrifugiert.

Die organische Phase wurde abpipettiert, mit eisen-III-chloridhaltiger Schwefelsäure versetzt, nochmals geschüttelt und zentrifugiert. Das so extrahierte Chlorpromazin konnte als roter Farbstoff am Eppendorf-Photometer bei einer Wellenlänge von 546 nm nach Absaugen der organischen Phase gemessen. (J. KRIEGLSTEIN und G. KUSCHINSKY, 1968) und die Chlorpromazinkonzentration in μM angegeben werden. Dem Perfusionsmedium wurde Chlorpromazin in einer Konzentration von 4 mM zugesetzt. In sechs Versuchen über jeweils drei Stunden wurde jede halbe Stunde 1 ml Perfusionsmedium an den Kathetern abgenommen und die Chlorpromazinkonzentration in diesen Proben ermittelt.

3. Perfusion des isolierten Rattenhirns

1. Zubereitung des Perfusionsmediums

Bezogen auf 100 ml Perfusionsmedium wurden verwandt:

40 ml gewaschene Rinder-Erythrozyten, 2 g Rinderserumalbumin (trocken, "reinst", Behringwerke) und Krebs-Henseleit-Lösung (KREBS und HENSELEIT, 1932) mit 0,4 % Glukose. Die Erythrozyten stammten aus Rinderblut, das nicht älter als 24 Stunden war. Sie wurden dreimal gewaschen, zweimal mit 1%iger Kochsalzlösung, das dritte Mal mit der oben erwähnten Krebs-Henseleit Glukose-Lösung. In einer kleinen Menge dieser Lösung wurden 2 g Rinderserumalbumin gelöst, 40 ml gewaschene Erythrozyten hinzugefügt und mit der Krebs-Henseleit Glukose-Lösung auf 100 ml aufgefüllt. Der Hämatokrit der Perfusionsmedien betrug 29 - 31 %, gemessen mit einer Mikrohämatokrit-Zentrifuge (Heraeus-Christ, Osterode).

2. Präparation des isolierten Rattenhirns und Anlegen der Elektroden

Die mit 1,2 g/kg Urethan i.p. narkotisierten männlichen Sprague-Dawley-Ratten (200 - 300 g) wurden auf einem Präparationstisch (Institutswerkstat) fixiert, so daß der Rattenschädel einen besonders festen Halt hatte. Das Schädeldach wurde freigelegt und biparietal Vertiefungen in den Knochen gebohrt, die den Spitzen der beiden bipolaren Elektroden Halt boten. Ein Tropfen Elektrolytpaste oder NaCl-Lösung in die Vertiefungen gegeben, setzte den Übergangswiderstand der Elektroden herab und konnte somit die Ableitungen wesentlich verbessern

Nach Tracheothomie und Intubation wurden die Arteriae carotides communes mit ihren Ästen bis zum knöchernen Schädel freigelegt. Da ausschließlich das Rattenhirn perfundiert werden sollte, wurden die Aa. carotides externae zusammen mit den Aa. occipitales abgebunden. Einer Trombosierung in den Hirngefäßen wurde mit einer Injektion von 2,5 · 10⁻² g/kg Heparin (bevor die Aa. pterygopalatinae unterbunden wurden), in eine Vena jugularis externa vorgebeugt.

3. Anschließen an die Apparatur

Jetzt konnten die luftblasenfrei mit Medium gefüllten Perfusionskatheter in die proximal ligierten und distal abgeklemmten Aa. carotides communes eingeführt und bis in die jeweilige Arteria carotis interna vorgeschoben werden. Während des Anschließens wurde das Rattenhirn über die Arteriae vertebrales mit Blut versorgt und nach Entfernung der Klammern gleichzeitig durch die Aa. carotides perfundiert. Nach Durchtrennen der Halsmuskulatur und der beiden Vv. jugulares wurde unterhalb einer kräftigen Ligatur in Höhe des dritten bis vierten Halswirbels der Rumpf abgesetzt. Die Ligatur verhinderte das Abfließen des Perfusionsmediums über die Aa. vertebrales. Das Perfusionsmedium konnte so nur über die angeschnittenen Venen abtropfen.

Die beim Abtrennen des Rumpfes herabfallenden Gewebeteile sowie die vom Präparat tropfende Blutmenge wurden in einer Petrischale solange aufgefangen, bis das isolierte Rattenhirn angeschlossen war und mit seiner Halterung über den Rücklauftrichter gestellt werden konnte. Da die arteriae carotides stets schon perfundiert wurden, während der Rumpf abgetrennt wurde, war die Menge des verworfenen Blutes im Verhältnis zu der anfänglich im Mediumbehälter vorhandenen so groß, daß bei jedem Perfusionsbeginn eine Ergänzung des Mediums erforderlich war. Der Mediumbehälter konnte anfangs nicht vorsorglich weiter aufgefüllt werden, da mit der zur Perfusion benötigten Menge gleichzeitig das maximale Fassungsvermögen des Behälters (25 ml plus 5 ml des Totraums) erreicht war. Der Oxygenator wurde vor der Perfusion angestellt, um eine ausreichende O₂-Sättigung des Blutes zu gewährleisten.

4. Ableitung des Elektroencephalogramms

Abgeleitet und aufgezeichnet wurden die Potentiale mit einer EEG-Registriereinheit IE 17 und dem dazugehörigen EEG-Pre-amplifier der Fa. Hellige oder einem EEG-Meßplatz mit Registriergerät der Fa. Hellige, bei einer Zeitkonstanten von 0,03, dem Filter 35 Hz und einer Vorschubgeschwindigkeit von 30 mm/sec.

Die EEG-Ableitungen, die kennzeichnend für den Funktionszustand des Rattenhirns sind, wurden vor der Präparation, nach der Präparation und während der Perfusion aufgezeichnet. So war ein Vergleich gegeben, der es erlaubte, den Einfluß der Perfusion auf den Funktionszustand des isolierten Hirns zu beurteilen. Bei geringer werdender EEG-Aktivität und/oder Wechselstromüberlagerungen konnte es schwierig sein, die EEG-Ableitungen richtig zu bewerten. Zur Differenzierung wurde die Perfusion für höchstens dreißig Sekunden unterbrochen. War noch eine Aktivität des Rattenhirns vorhanden, näherte sich die Ableitung nach Abstellen der Perfusion langsam der Nulllinie, um sich nach Wiedereinschalten langsam aufzubauen. Diese Wirkung auf die biologische Aktivität konnte zur Beurteilung gegenüber Wechselstromüberlagerungen herangezogen werden, da man beim Ausschalten und Einschalten der Perfusionsapparatur häufig ein gleichzeitiges Verschwinden und Erscheinen der Wechselstromüberlagerungen sehen konnte.

C Anwendung der Apparatur

1. Perfusion mit einem System der Apparatur

Während der Perfusion mit einem der beiden Systeme zirkulierte im anderen physiologische Kochsalzlösung. Das war erforderlich, da die Druck- und Pumpräume beider Systeme miteinander verbunden sind. Beim Pumpen ohne Widerstand in dem einen System würde dies zu einer geringeren Leistung in dem anderen führen.

Nach Beendigung der Perfusion konnte die NaCl-Lösung über den Ausgang der Apparatur mittels einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt werden. Mit der Erneuerung des Filters und der Katheter konnte sofort eine weitere Perfusion beginnen, nachdem dieses System mit Medium gefüllt war.

2. Perfusion mit beiden Systemen der Apparatur

Dazu wurden beide Mediumbehälter vor Beginn der Perfusion mit Medium gefüllt. Damit das Perfusionsmedium jeweils nur

in dem System zirkulierte, das eingeschaltet war, mußte nach dem Umschalten von einem System auf das andere auch der Rattenschädel über den dazugehörigen Rücklaufrichter geschoben werden.

3. Messung der Glukose während der Perfusion

Die Glukosekonzentration in der Probe wurde enzymatisch bestimmt. In dem Reaktionsansatz aus Pufferlösung, der aufbereiteten Mediumprobe, ATP/NADP-Lösung und Glukose-6 Phosphat Dehydrogenase wurde nach Stillstand der Reaktion die Extinktion des reduzierten NADP am Zeiss-Photometer PMQ II, Wellenlänge 340 nm, abgelesen. Die NADPH-Zunahme ist der Glukosemenge proportional, die rechnerisch ermittelt und in mg % angegeben wurde.

a. mit einem System

Jede halbe Stunde, über eine Perfusionsdauer von drei Stunden, wurden aus dem Mediumbehälter 0,5 ml Perfusionsmedium entnommen. Die Probe wurde sofort mit 0,6 N Perchlorsäure geschüttelt und zehn Minuten bei 200 U/pm zentrifugiert (Heraeus-Christ-Zentrifuge, Osterrode), dann die Glukosekonzentration im eiweißfreien Überstand bestimmt.

b. mit beiden Systemen

In einem weiteren Versuch über zwei Stunden wurden jede 1/4 Stunde 0,5 ml Perfusionsmedium, ebenfalls aus dem Mediumbehälter, abgenommen. Nach der ersten Stunde erfolgte die Umschaltung auf das andere System, mit dem die Perfusion für die nächste Stunde mit unverbrauchtem Medium fortgesetzt wurde.

4. Perfusion mit einem trichloräthanolhaltigen Medium

Dem Perfusionsmedium wurde Trichloräthanol in einer Konzentration von 4 ml/l zugesetzt. Das eine der beiden Systeme wurde mit dem üblichen Medium gefüllt, das andere mit dem

trichloräthanolhaltigen. Nach einer Vorperfusion von fünfzehn Minuten wurde auf das trichloräthanolhaltige umgeschaltet. Während des Zurückschaltens, nach weiteren 30 Minuten, wurden die ersten ca. 4ml des aus der Ratte tropfenden Blutes aufgefangen und verworfen, um die Verunreinigungen des Kontrollmediums mit Trichloräthanol einzuschränken.

ERGEBNISSE

1. Oxygenierungsleistung der Apparatur

Zur Beschreibung der Oxygenierungsleistung der Apparatur wurde der Anstieg der Sauerstoffspannung im Perfusionsmedium verfolgt. Es zeigt sich, daß nach drei bis vier Minuten die Sauerstoffspannung 100 mm Hg betrug, bei der das Hämoglobin zu über 90 % gesättigt ist. Nach zehn Minuten war ein Plateau vom 500 mm Hg erreicht, das in etwa während der restlichen Versuchsdauer erhalten blieb. (Tab. 1, Abb. 3).

2. Apparaturbedingte Hämolyse

Der Anstieg des Hämoglobins im Überstand des Perfusionsmediums sollte als Ausdruck für apparaturbedingte Hämolyse gewertet werden. Nach drei Stunden betrug die Hämolyse 8-9 % des Gesamthämoglobins des Perfusionsmediums. (Tab. 2, Abb. 4).

3. Adsorption von Chlorpromazin an Kunststoffteile der Apparatur

Als Kennzeichnung des Ausmaßes der Adsorption einer lipophilen Substanz an die Kunststoffteile der Apparatur konnte die Abnahme der Chlorpromazinkonzentration im Perfusionsmedium angesehen werden. Nach drei Stunden fiel die Chlorpromazinkonzentration auf 59 ± 2 % des Ausgangswertes ab ($n=6$). Aus drei Sechsstundenwerten ergab sich ein Absinken auf 55 ± 5 %. (Tab. 3, Abb. 5).

4. Glukosekonzentration während der Perfusion

Die Dauer einer Rattenhirnperfusion ist unter anderem durch das Glukoseangebot, die Lactatanhäufung und der damit verbundenen PH-Verschiebung begrenzt.

a. mit einem System

Die Glukosekonzentration wurde während einer Perfusion über drei Stunden gemessen. Sie fiel in diesem Versuch von 280,8 mg % auf 160 mg % ab. (Tab. 4).

b. mit beiden Systemen

In diesem Versuch über zwei Stunden fiel die Glukosekonzentration in der ersten Stunde von 264,6 mg % auf 171 mg %, nach dem Umschalten in der zweiten Stunde von 230,4 mg % auf 185 mg % ab. (Tab. 4).

5. Perfusion mit einem trichloräthanolhaltigen Medium

Zur Perfusion mit einer zentral wirksamen Substanz wurde das bereits am isolierten Rattenhirn erprobte Trichloräthanol gewählt, da die durch dieses Mittel hervorgerufenen Veränderungen bekannt und charakteristisch genug sind, um das Einsetzen und Abklingen seiner Wirkung an den EEG-Ableitungen gut verfolgen zu können (GRÜNER et al., 1973). Schon fünf Minuten nach dem Umschalten vom Kontrollmedium auf das trichloräthanolhaltige Medium konnten die ersten typischen Zeichen für das Einsetzen der Substanzwirkung beobachtet werden. (Abb. 6).

Die charakteristischen Spikes (steile, großamplitudige Ausschläge) waren immer deutlicher in den Ableitungen zu sehen, während die Amplituden der Ausschläge zwischen den Spikes immer mehr abnahmen. Vom Zeitpunkt des Umschaltens auf das trichloräthanolfreie Medium an konnte der Rückgang dieser EEG-Veränderungen verfolgt werden. Das nach fünf Minuten aufgezeichnete EEG (Abb. 6) entspricht bereits weitgehend wieder dem Kontroll-EEG.

Tabelle 1

Oxygenierungsleistung der Apparatur

Das Perfusionsmedium rezirkulierte unter Carbogenbegasung drei Stunden. Der Systemdruck betrug 140 mm Hg, der Durchfluß ca. 4 ml/min. Fortlaufend wurde die Sauerstoffspannung in mm Hg gemessen.

Rezirkulations- zeit in Min.	Versuchs-Nr.						$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$
	1	2	3	4	5	6	
	(PO ₂ in mm Hg)						
0	41	50	49	55	45	48	48 $\pm$ 1
1	41	52	50	60	48	49	50 $\pm$ 2
2	60	55	50	120	53	50	64 $\pm$ 11
3	95	70	160	270	115	50	126 $\pm$ 32
4	168	140	328	365	220	85	217 $\pm$ 44
5	243	238	410	440	380	100	301 $\pm$ 53
6	280	298	455	490	442	330	382 $\pm$ 36
7	319	335	500	510	485	410	426 $\pm$ 34
8	362	340	512	535	511	445	450 $\pm$ 33
9	388	505	532	520	530	480	492 $\pm$ 22
10	408	540	545	549	542	495	513 $\pm$ 22
11	427	540	550	553	552	515	522 $\pm$ 20
12	428	565	550	550	560	513	527 $\pm$ 21
13	431	569	579	558	562	545	540 $\pm$ 22
14	425	565	550	562	570	545	536 $\pm$ 22
15	441	571	558	569	585	540	544 $\pm$ 21
30	551	580	572	582	600	571	576 $\pm$ 6
45	550	580	560	562	580	570	567 $\pm$ 4
60	549	581	570	566	565	571	567 $\pm$ 4
75	549	560	555	558	553	552	554 $\pm$ 1
90	548	570	568	562	565	562	562 $\pm$ 3
105	530	560	562	552	572	560	556 $\pm$ 5
120	540	569	570	559	579	568	564 $\pm$ 5
135	545	575	558	550	578	568	562 $\pm$ 5
150	542	565	558	561	586	572	565 $\pm$ 5
165	540	580	550	552	582	568	562 $\pm$ 7
180	565	585	563	553	580	550	566 $\pm$ 5

Abb. 3. Oxygenierungsleistung der Apparatur. Abhängigkeit der Sauerstoffspannung (P_{O_2} in mm Hg, Ordinate) von der Rezirkulationszeit (in Minuten, Abszisse). Das Perfusionsmedium rezirkulierte unter Carbogenbegasung drei Stunden. Der Systemdruck betrug 140 mm Hg, der Durchfluß ca. 4 ml/min. Fortlaufend wurde die Sauerstoffspannung in mm Hg gemessen. Die angegebenen Punkte stellen die Mittelwerte und die Standardabweichungen der Mittelwerte aus sechs Versuchen dar.

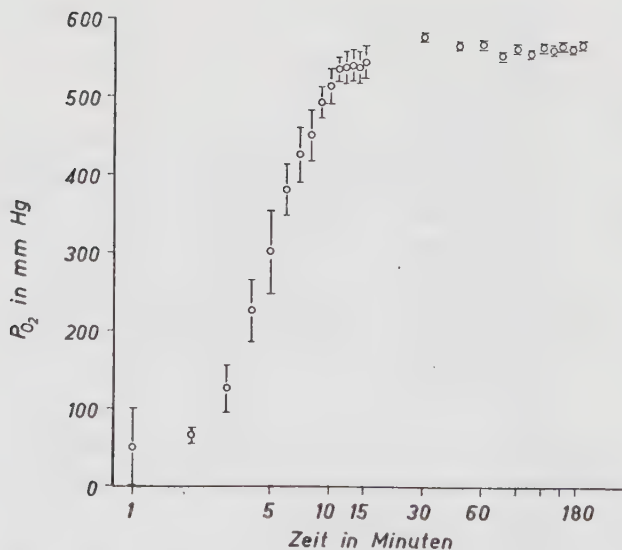


Tabelle 2

Apparaturbedingte Hämolyse

Das Perfusionsmedium rezirkulierte drei Stunden unter Carbogenbegasung. Der Systemdruck betrug 140 mm Hg, der Durchfluß ca. 4 ml/min. Alle dreißig Minuten wurde 1 ml Blut von den Kathetern abgenommen. Die Hämoglobinkonzentration im erythrozytenfreien Überstand der einzelnen Fraktionen wurde in mg % angegeben.

Rezirkulations- zeit in Min.	1	2	3	Versuchs-Nr.		6 (Hämoglobin in mg %)	$\bar{x} \pm s\bar{x}$
				4	5		
0	60	70	80	60	60	70	66 $\pm$ 3
30	210	280	200	260	260	130	223 $\pm$ 22
60	330	450	320	430	430	190	358 $\pm$ 40
90	460	620	440	620	600	260	500 $\pm$ 58
120	590	790	660	880	770	280	661 $\pm$ 86
150	760	1040	870	1160	900	350	846 $\pm$ 114
180	880	1190	1000	1410	1050	410	990 $\pm$ 137

Abb. 4. Apparaturbedingte Hämolyse. Abhängigkeit der Hämoglobinkonzentration im erythrozytenfreien Überstand (Hb in mg %, Ordinate) von der Rezirkulationszeit (in Minuten, Abszisse). Das Perfusionsmedium rezirkulierte drei Stunden unter Carbogenbegasung. Der Systemdruck betrug 140 mm Hg, der Durchfluß ca. 4 ml/min. Alle dreißig Minuten wurde 1 ml Blut von den Kathedern abgenommen. Die Hämoglobinkonzentration im erythrozytenfreien Überstand der einzelnen Fraktionen wurde in mg % angegeben. Die angegebenen Punkte stellen die Mittelwerte und die Standardabweichungen der Mittelwerte aus sechs Versuchen dar.

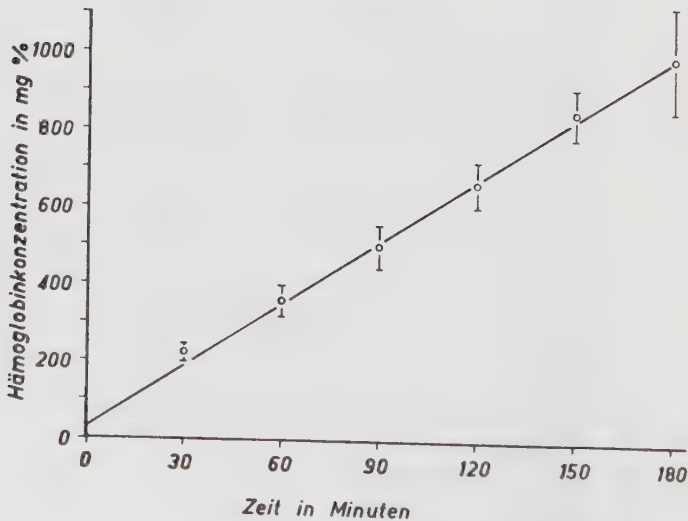


Tabelle 3

Adsorption von Chlorpromazin an Kunststoffteile der Apparatur

Das Perfusionsmedium rezirkulierte unter Carbogenbegasung. Der Systemdruck betrug 140 mm Hg, der Durchfluß ca. 4 ml/min. Alle dreißig Minuten wurde 1 ml Blut an den Kathetern abgenommen. Die Chlorpromazinkonzentration jeder Probe wurde in μMol angegeben.

Rezirkulations- zeit in Min.	1	2	Versuchs-Nr.			5	6	$\bar{x} \pm s_x$
			3	4	(Chlorpromazin in μMol)			
0	100	100	100	100	100	100	100	100 ± 0
30	85,71	86,48	89,13	75,00	89,89	90,38	86	± 2
60	80,00	82,43	71,73	72,91	94,94	78,84	80	± 3
90	77,14	82,43	66,30	72,91	91,91	74,03	77	± 3
120	77,14	62,16	58,69	62,50	85,85	55,76	67	± 4
150	71,42	62,16	55,43	60,41	77,77	50,00	62	± 4
180	65,71	62,16	54,34	56,25	66,66	51,92	59	± 2
360	65,71		46,73		54,54		55	± 5

Abb. 5. Adsorption von Chlorpromazin an Kunststoffteile der Apparatur. Abhängigkeit der Chlorpromazinadsorption (Chlorpromazin in % der Ausgangskonzentration, Ordinate) von der Rezirkulationszeit (in Minuten, Abszisse). Das Perfusionsmedium rezirkulierte unter Carbogenbegasung. Der Systemdruck betrug 140 mm Hg, der Durchfluß ca. 4 ml/min. Alle dreißig Minuten wurde 1 ml Blut an den Kathetern abgenommen. Die Chlorpromazinkonzentration jeder Probe wurde in μMol angegeben. Die angegebenen Punkte stellen die Mittelwerte und die Standardabweichungen der Mittelwerte aus sechs Versuchen dar.

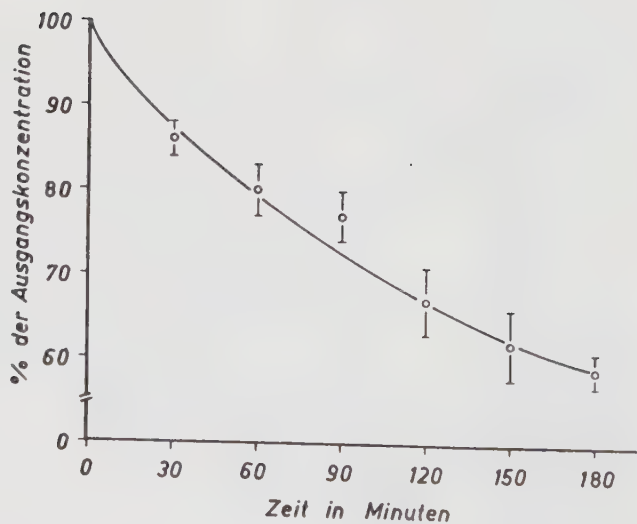


Tabelle 4

Glukosekonzentration während der Perfusion

a. mit einem System

Während einer dreistündigen Perfusion wurden jede halbe Stunde 0,5 ml Perfusionsmedium dem Mediumbehälter entnommen. Die Glukosekonzentration in den Proben wurde gemessen.

Perfusionszeit in Min.	Glukosekonzentration mg %
0	280,8
30	268,2
60	228,6
90	226,8
120	208
150	175,5
180	160

b. mit beiden Systemen

Während einer zweistündigen Perfusion wurden jede Viertelstunde 0,5 ml Perfusionsmedium dem Mediumbehälter entnommen.

Perfusionszeit in Min.	Glukosekonzentration mg %	
	vor dem Umschalten	nach dem Umschalten
0	246,6	
15	217,8	
30	199,8	
45	185,4	
60	171	230,4
75		217,8
90		212,4
105		196,2
120		185,4

Abb. 6. Perfusion mit einem trichloräthanolhaltigen Medium. Die EEG-Ableitungen wurden bei 10, 30 und 50 Minuten nach Perfusionsbeginn aufgezeichnet. In den ersten 15 Minuten wurde das isolierte Rattenhirn mit dem Kontrollmedium aus dem System A perfundiert, von 15 bis 45 Minuten mit dem trichloräthanolhaltigen Medium (in einer Konzentration von 4mM) aus dem System B und von 45 bis 60 Minuten wieder mit dem Kontrollmedium aus System A.

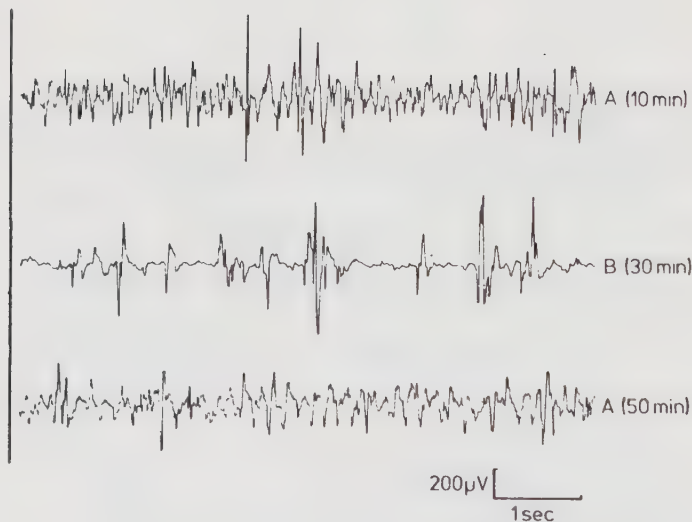
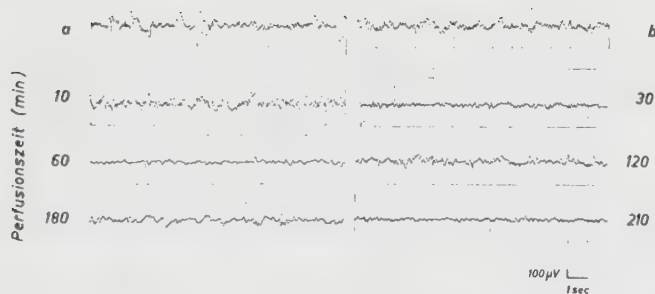


Abb. 7. Electroencephalogramm (EEG) eines Perfusionsversuchs mit einem System über 3 1/2 Stunden. EEG der narkotisierten Ratte vor (a) und nach der Präparation (b). Für die übrigen EEG-Kurven ist die nach der Dekapitation vergangene Perfusionszeit in Minuten angegeben.



DISKUSSION

Die Funktionstüchtigkeit der beschriebenen Apparatur zur Perfusion isolierter Rattenhirne konnte dokumentiert werden. Das gilt auch für Versuche, bei denen während der Perfusion von einem auf das andere System umgeschaltet worden war. Dabei konnten keine Einflüsse auf das isolierte Organ beobachtet werden, die sich in plötzlichen EEG-Veränderungen gezeigt hätten. Die Forderung, mit einer kleinen Menge Perfusionsmedium bei kleinem Totraum zu arbeiten, ist erfüllt.

Ein Überschuß an Medium war notwendig, um den jeweiligen Verlust an Medium während des Anschließens an die Apparatur und beim beabsichtigten Ausspülen des Rattenblutes auszugleichen. Im Laufe der Perfusion konnte sich die sinusförmige Druckamplitude verändern, so gewissenhaft das Gerät zu Versuchsbeginn auch eingestellt worden war. Durch den Unterdruck in der Saugphase der Pumpe konnte die in der Kochsalzlösung gelöste Luft frei werden und sich als mehr oder weniger große Blasen im Pumpsystem festsetzen. Die Arretierung der Stellschraube an der Pumpstange konnte sich während der Perfusion lockern, was bewirkte, daß die Mittelstellung des Gummischlauchs im Pumpelement möglicherweise nicht mehr optimal war. Eine Korrektur der Veränderung war nur bedingt möglich, weil die Luftblasen im Pumpsystem nicht entfernt werden konnten, ohne die Perfusion zu unterbrechen. Die Stellschraube konnte aber während der Perfusion in der markierten Stellung wieder arretiert werden.

Die mitunter stark differierenden Werte der apparaturbedingten Hämolyse sind wohl zum Teil auf die unterschiedliche, wenn auch geringe Menge an Kondenswasser zurückzuführen, die in das Medium gelangt. Sie fällt trotz aller Vorsichtsmaßnahmen (zum Beispiel der gewärmte Deckel des Mediumsbehälters) im Stiel des rotierenden Glaszylinders aus und hämolysiert, vom Carbogen ins Medium getrieben, die Erythrozyten. Auch das Kondenswasser, das sich auf den relativ kühleren Rücklaufrohrchen, die über das Blut in den Mediumbehälter ragen, bildet und heruntertropft, trägt dazu bei. Beim

Zusammensetzen des Flexiglasblockes konnten die Mediumwege von Messung zu Messung verschieden stark gegeneinander versetzt sein. Dies führte dann möglicherweise an den ins Lumen ragenden Kanten zu vermehrter Hämolyse. Bedenkt man die kleine Menge des Perfusionsmediums und die dadurch häufigere Zirkulation im System sowie die versuchsbedingte Abnahme des Mediums während der Messung um fast ein Viertel seiner Ausgangsmenge, bleibt die apparaturbedingte Hämolyse vergleichbar den Ergebnissen der früheren Apparaturen (FLECK et al., 1972).

Daß die Adsorption einer lipophilen Substanz an die Kunststoffteile des in dieser Arbeit beschriebenen Gerätes ausgeprägt sein mußte, war zu erwarten, da das Medium auf der Hälfte seines Weges mit Kunststoff in Berührung kam. Die Adsorption von Chlorpromazin trat bei der hier beschriebenen Apparatur sechsmal stärker in Erscheinung, als bei Apparatur II von FLECK et al. (1972), die fast gänzlich aus Glas besteht.

Die Oxygenierungsleistung der hier beschriebenen Perfusionsapparatur war völlig ausreichend und fast identisch mit der der Apparatur II von FLECK et al. (1972).

Die Glukosemenge, die von isoliert perfundierten Rattenhirnen in einer bestimmten Zeit verbraucht wird, kann als ausreichend konstant angenommen werden, so daß erwartet werden muß, daß die Glukosekonzentration während der gleichen Zeit in der kleinen Menge Perfusionsmedium schneller absinkt als in einer größeren. In der ersten Versuchsreihe konnte gezeigt werden, daß die Ausgangskonzentration ausreichend genug war, um die Glukosekonzentration nach dreistündiger Perfusion nicht so weit absinken zu lassen, daß der Funktionsstillstand des Rattenhirns allein darauf zurückzuführen wäre. Das nächste Beispiel verdeutlichte die Möglichkeit, durch Umschalten während der Perfusion das ursprüngliche Energieangebot wiederherzustellen.

Der Versuch mit trichloräthanolhaltigem Medium hat eine der wesentlichsten Anwendungsmöglichkeiten der hier beschriebenen Perfusionsapparatur aufgezeigt. Nämlich die, innerhalb eines geschlossenen Versuchssystems ohne Unterbrechung der Perfusion von einem bestimmten Zeitpunkt an das isolierte Organ einer geänderten Bedingung auszusetzen. In diesem Beispiel war es das Trichloräthanol, das nach dem Umschalten auf das Hirn einwirken konnte, was in den EEG-Ableitungen gut zu verfolgen war. Der Vorgang des Zurückschaltens bedeutete eine Umkehrung der Versuchsführung, da dem Rattenhirn nach dem Zurückschalten ein substanzfreies angeboten wurde. Auch hier war die Wirkung auf das EEG-Bild zu beobachten. Die Reihenfolge dieser Versuchsführung läßt sich den Fragestellungen entsprechend gestalten. So sind etwa auch Versuche denkbar, in denen das isolierte Organ zunächst einem substanzhaltigen Medium und nach dem Umschalten einem Medium ausgesetzt wird, das mit einem zweiten Wirkstoff angereichert ist. In dieser Versuchsanordnung ließen sich die Einflüsse der beiden Substanzen auf das Rattenhirn sowie aufeinander unter kontrollierten Bedingungen prüfen.

Mit der hier beschriebenen Perfusionsapparatur konnten Überlebenszeiten des isolierten Organs von drei bis vier Stunden erzielt werden (Abb. 7).

Z U S A M M E N F A S S U N G

Die hier beschriebene Apparatur zur Perfusion isolierter Rattenhirne wurde in Anlehnung an die Apparatur II (W. FLECK et al., 1971) entwickelt und mit Erfolg erprobt. Die hier beschriebene Apparatur vereint in sich zwei Perfusionssysteme. Jedes besteht aus Oxygenator, Starlingwiderstand und Pumpelement. Die Druckräume der Starlingwiderstände sowie der Pumpelemente beider Systeme sind miteinander verbunden. Eine Pumpe für beide Systeme garantiert zusätzlich die gleiche pulsatorische Mediumumwälzung bei gleichem Druck. Während der Perfusion konnte ohne Einfluß auf das isolierte Organ von einem auf das andere der beiden in der Apparatur vereinten Perfusionssysteme umgeschaltet werden. Überlebenszeiten von drei bis vier Stunden wurden erreicht. Durch die kleinere Abmessung des Geräts fielen die apparaturbedingte Hämolyse und die Adsorption durch die vermehrten Kunststoffteile stärker aus als bei früher entwickelten Apparaturen.

Die Oxygenierungsleistungen bei beiden Apparaturen waren annähernd gleich. Das Plateau der Sauerstoffspannung betrug nach zehn Minuten ca. 500 mm Hg. Das isolierte Gehirn wurde nach Perfusion mit einem arzneimittelfreien Medium durch Umschalten auf das zweite System der Apparatur mit einem pharmakonhaltigen Medium perfundiert. Der Effekt von Trichloräthanol erwies sich nach Zurückschalten auf das Kontrollmedium als reversibel.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- ALLWEIS, C., ABELES, M., MAGNES, J.: Perfusion of cat brain with simplified blood after filtration through glass wool. Amer. J. Physiol. 213, 83 (1967).
- ANDJUS, R.K., SUHARA, K., SLOVITER, H.A.: An isolated, perfused rat brain preparation, its spontaneous and stimulated activity. J. Appl. Physiol. 22, 1033 (1967).
- CHUTE, A.L., SMYTH, D.H.: Metabolism of the isolated cat's brain. Quart. J. Exper. Physiol. 29, 379 (1939).
- CROSBY, W.H., FURTH, F.W.: A modification of the benzidine method for measurement of hemoglobin in plasma and urine. Blood 11, 380 (1956).
- EMMENEGGER, H., TAESCHLER, M., CERLETTI, A.: Ein isoliert durchströmtes, arbeitendes Herzpräparat der Katze. Helvet. Physiol. pharmacol. acta 20, 213 (1962).
- EMMENEGGER, H., TAESCHLER, M., CERLETTI, A.: Neue Möglichkeit derisolierten Hirndurchströmung. Helvet. Physiol. pharmacol. acta 21, 239 (1963).
- FLECK, W., KRIEGLSTEIN, J., URBAN, W.: Zwei Apparaturen zur Perfusion des isolierten Rattenhirns. Arzneimittel-Forsch. 22, 1225 (1972).
- GALLAGHER, D.J.A.: A medium for perfusion of innervated blood vessels. Brit. J. Pharmacol. 9, 129 (1954).
- GEIGER, A., MAGNES, J.: The isolation of the cerebral circulation and the perfusion of the brain in the living cat. Amer. J. Physiol. 149, 517 (1947).
- GEIGER, A.: Technique of brain perfusion in situ. Meth. Med. Res. 9, 248 (1961).

- GILBOE, D.D., CONTANCH, W.W., GLOVER, M.B.: Isolation and mechanical maintenance of the dog brain. *Nature* 206, 94 (1965).
- GREENE, E.C.: Anatomy of the rat, p. 186. New York: Hafner 1935.
- GRÜNER, J., KRIEGLSTEIN, J., RIEGER, H.: Comparison of the effects of chloral hydrate and trichloroethanol on the EEG of the isolated perfused rat brain. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, im Druck (1973).
- HANKS, G.E., CASSELL, M.M., RAY, R.N., CHAPLIN, H.: Further modification of the benzidine method for measurement of hemoglobin in plasma. *J. Laborat. Clin. Med* 56, 486 (1960).
- HORST, W.D., JESTER, J.: The use of isolated perfused rat brains in a study of 14 C-L-DOPA metabolism. *Life Sci.* 10, 685 (1971).
- KLEMM, W.R.: *Animal Electroencephalography*, p. 232. New York-London: Academic press 1969.
- KREBS, K.H., HENSELEIT, K.: Untersuchungen über die Harnstoffbildung im Tierkörper. *Hoppe - Seyler's Zschr. physiol. Chem.* 210, 33 (1932).
- KRIEGLSTEIN, G., KRIEGLSTEIN, J., STOCK, R.: Suitability of the isolated perfused rat brain for studying effects on cerebral metabolism. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 275, 124 (1972a).
- KRIEGLSTEIN, G., KRIEGLSTEIN, J., URBAN, W.: Long survival time of an isolated perfused rat brain, *J. Neurochem.* 19, 885 (1972b).
- KRIEGLSTEIN, J., STOCK, R.: Comparative study of the effects of chloral hydrate and trichloroethanol on cerebral metabolism. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, im Druck (1973).
- LONG, J.A., LYONS, W.R.: A small perfusion apparatus for the study of surviving isolated organs. *J. Laborat. Clin. Med.* 44, 614 (1954).

- SCHIMASSEK, H., in: Stoffwechsel der isoliert perfundierten Leber (Hrsg. W. Staib und H. Scholz) S. 1-10. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1968.
- SLOVITER, H.A., KAMIMOTO, T.: Erythrocyte substitute for perfusion of brain. *Natur* 216, 458 (1967).
- SLOVITER, H.A. YAMADA, H.: Absence of direct action of insulin on metabolism of the isolated perfused rat brain. *J. Neurochem.* 18, 1269 (1971).
- SWANK, R.L., HIRSCH, H., ISSELIAND, W.: Continuous filtration of blood through pyrex glass wool filters. *Bibliotheca Anat.* 4, 62 (1962).
- THOMPSON, A.M., ROBERTSON, R.C., BAUER, T.A.: A rat head-perfusion technique developed for the study of brain uptake of materials. *J. appl. Physiol.* 24, 407 (1968).
- WHITE, R.J., ALBIN, M.S., VERDURA, J.: Preservation of viability in the isolated monkey brain utilizing a mechanical extra-corporeal circulation. *Nature* 202, 1082 (1964).
- ZIVIN, J.A., SNARR, J.F.: A stable preparation for rat brain perfusion: effect of flow rate on glucose uptake. *J. appl. Physiol.* 32, 658 (1972a).
- ZIVIN, J.A., SNARR, J.F.: Glucose and D (-)-3-hydroxybutyrate uptake by isolated perfused rat brain. *J. appl. Physiol.* 32, 664 (1972b).

Lebenslauf

Ich wurde am 20.9. 1946 als zweiter Sohn des Rechtsanwalts und Notars Dr. Ernst Reichmann und seiner Frau Lieselotte geb. Brenda in Wiesbaden geboren.

Eingeschult wurde ich 1953, die Reifeprüfung bestand ich am 2.11. 1966 an der Oranien Schule, Realgymnasium für Jungen, in Wiesbaden.

Im Sommersemester 1967 und im Wintersemester 1967/68 studierte ich Naturwissenschaften an der Johannes Gutenberg-Universität, Mainz. Im Sommersemester 1968 schrieb ich mich in der Medizinischen Fakultät in Mainz ein. Das Wintersemester 1967/68 wurde mir für das Medizinstudium anerkannt.

Die Naturwissenschaftliche Vorprüfung legte ich im Frühjahr 1968 in Mainz ab, die Ärztliche Vorprüfung im Sommer 1970, ebenfalls in Mainz. Die Ärztliche Prüfung habe ich in Mainz am 4.12.1973 bestanden. Promoviert wurde ich am 6.3. 1974.

Seit 12.11. 1971 bin ich verheiratet. Meine Frau Gisela geb. Hitzsche ist Redakteurin.

Wiesbaden, den 12. Juli 1974

